

La méthode de l'ADN environnemental dans la conduite d'inventaires et de suivis

Focus sur l'étude des populations du triton crêté (*Triturus cristatus*) dans le Brionnais (71)

SHNA-OFAB

Nicolas VARANGUIN

Directeur adjoint

SPYGEN

Pauline JEAN

Chef de projet

1 - Définition de l'ADN environnemental

- « ADN pouvant être extrait à partir d'échantillons environnementaux sans avoir besoin d'isoler au préalable des individus cibles » (Taberlet et al. 2012)
- Cet ADN peut être libéré dans l'environnement par l'intermédiaire de fèces, d'urine, de gamètes, de mucus, de salive, de peau, ou de la décomposition d'organismes morts.
- En milieu aquatique, il reste peu de temps dans l'environnement (quelques jours à quelques semaines).





2 - Les approches par l'ADN environnemental

a - Suivi d'espèces cibles (ADNe barcoding)



2 - Les approches par l'ADN environnemental

a - Suivi d'espèces cibles (ADNe barcoding)



Apron du Rhône
Zingel asper



Cistude d'Europe
Emys orbicularis



Loche d'étang
Misgurnus fossilis



Xénope lisse
Xenopus laevis



Grenouille Taureau
Lithobates catesbeianus



Triton crête
Triturus cristatus



Triton marbré
Triturus marmoratus



Pélobate brun
Pelobates fuscus



Écrevisse à pattes blanches
Austropotamobius pallipes



Écrevisse de Louisiane
Procambarus clarkii



Triton crête italien
Triturus carnifex

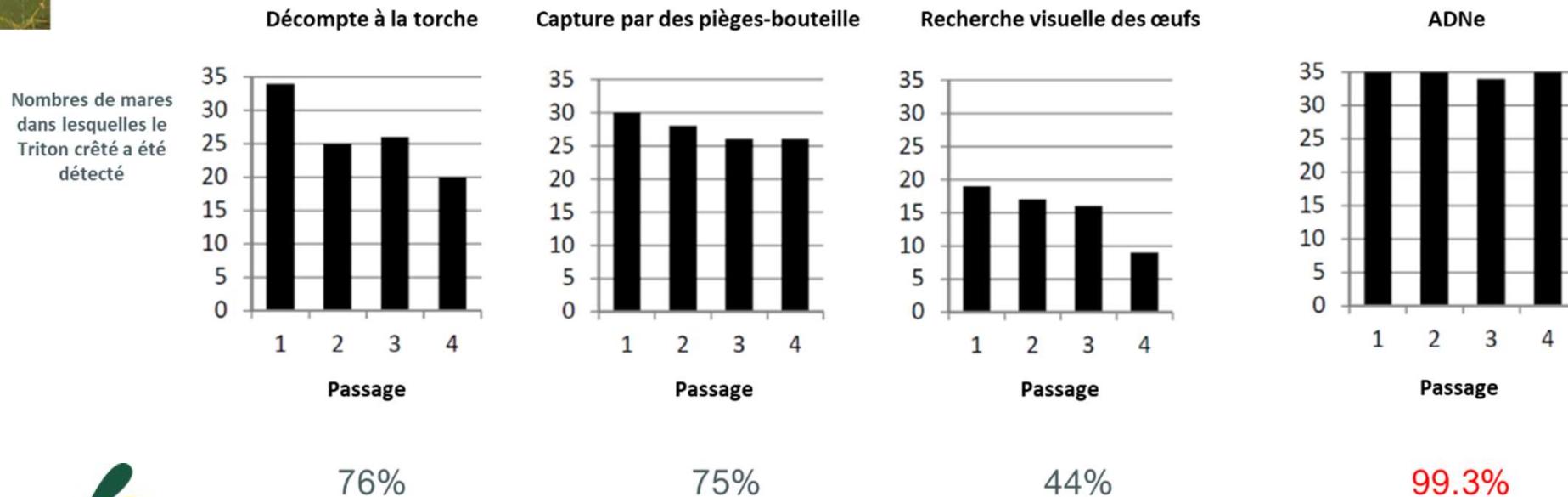
Et aussi :

- Peste de l'Écrevisse (*Aphanomyces astaci*)
- Ranavirus
- *Batrachochytrium salamandrivorans*



2 - Les approches par l'ADN environnemental

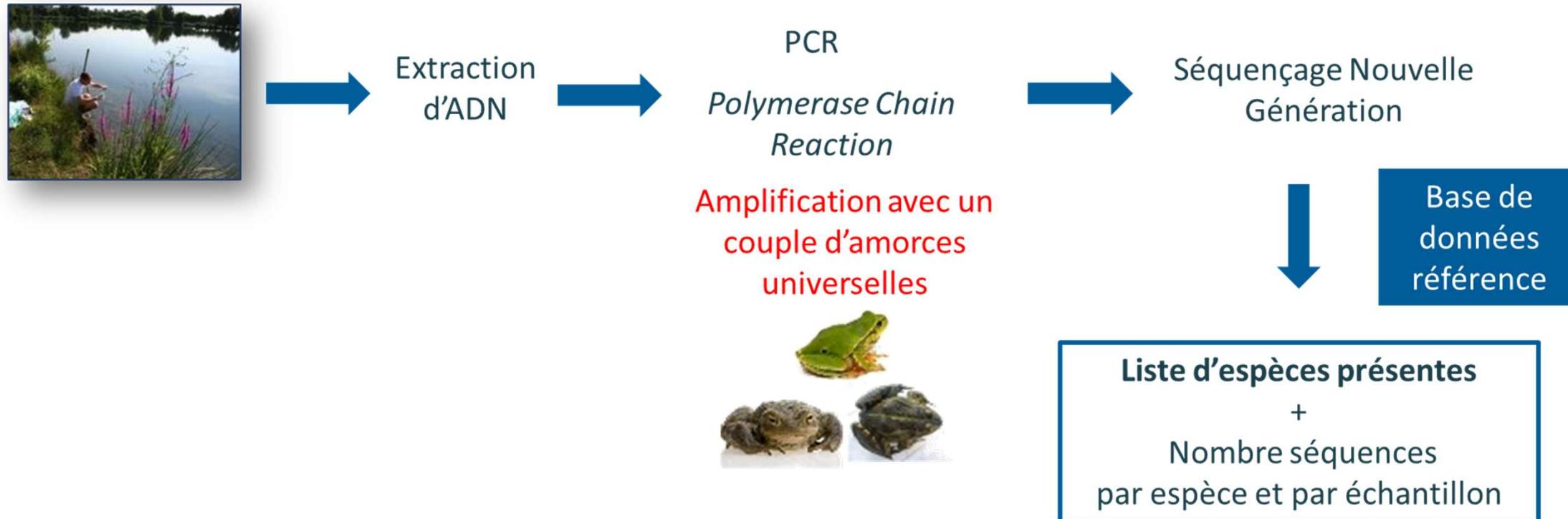
a - Suivi d'espèces cibles (ADNe barcoding) : ex du triton crêté





2 - Les approches par l'ADN environnemental

b - Inventaire de groupes taxonomiques (ADNe metabarcoding)





2 - Les approches par l'ADN environnemental

b - Inventaire de groupes taxonomiques (ADNe metabarcoding)



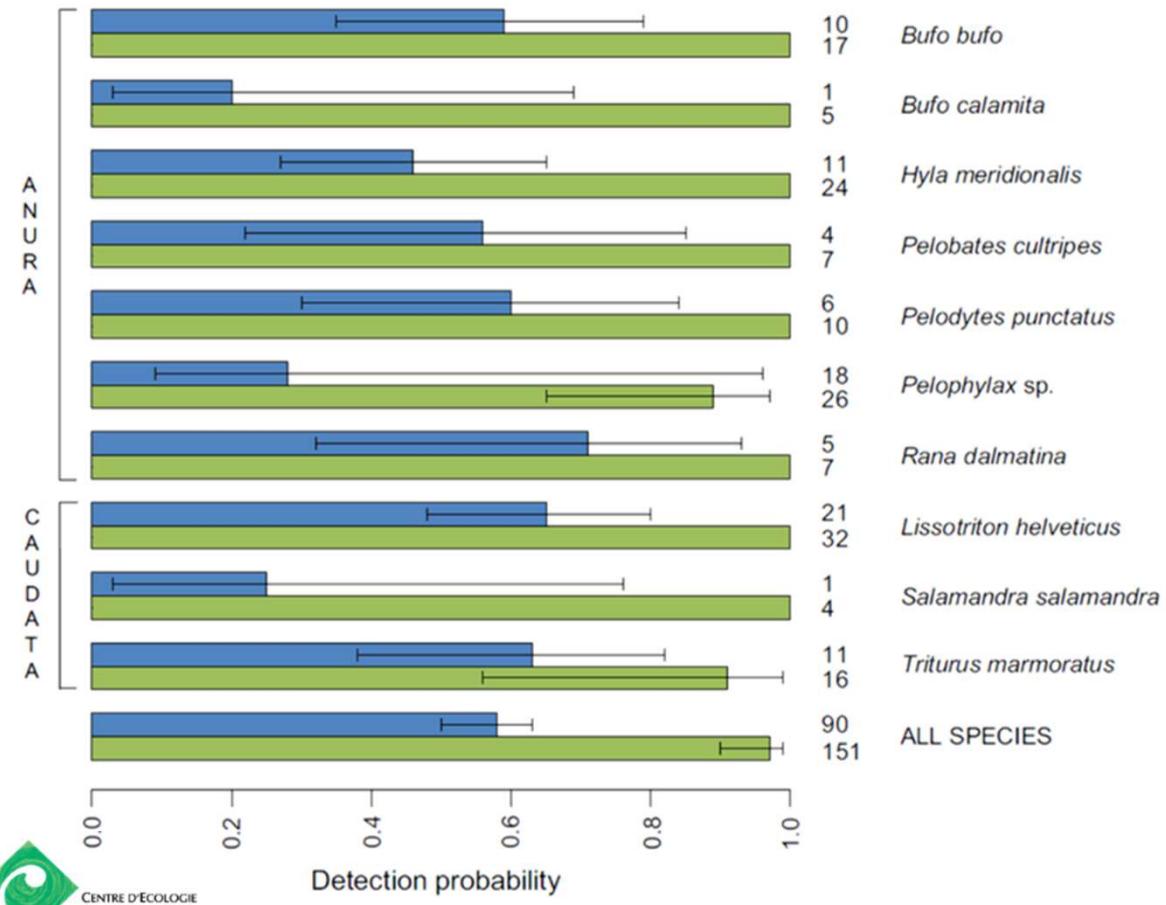


2 - Les approches par l'ADN environnemental

b - Inventaire de groupes taxonomiques (ADNe metabarcoding) : ex des Amphibiens

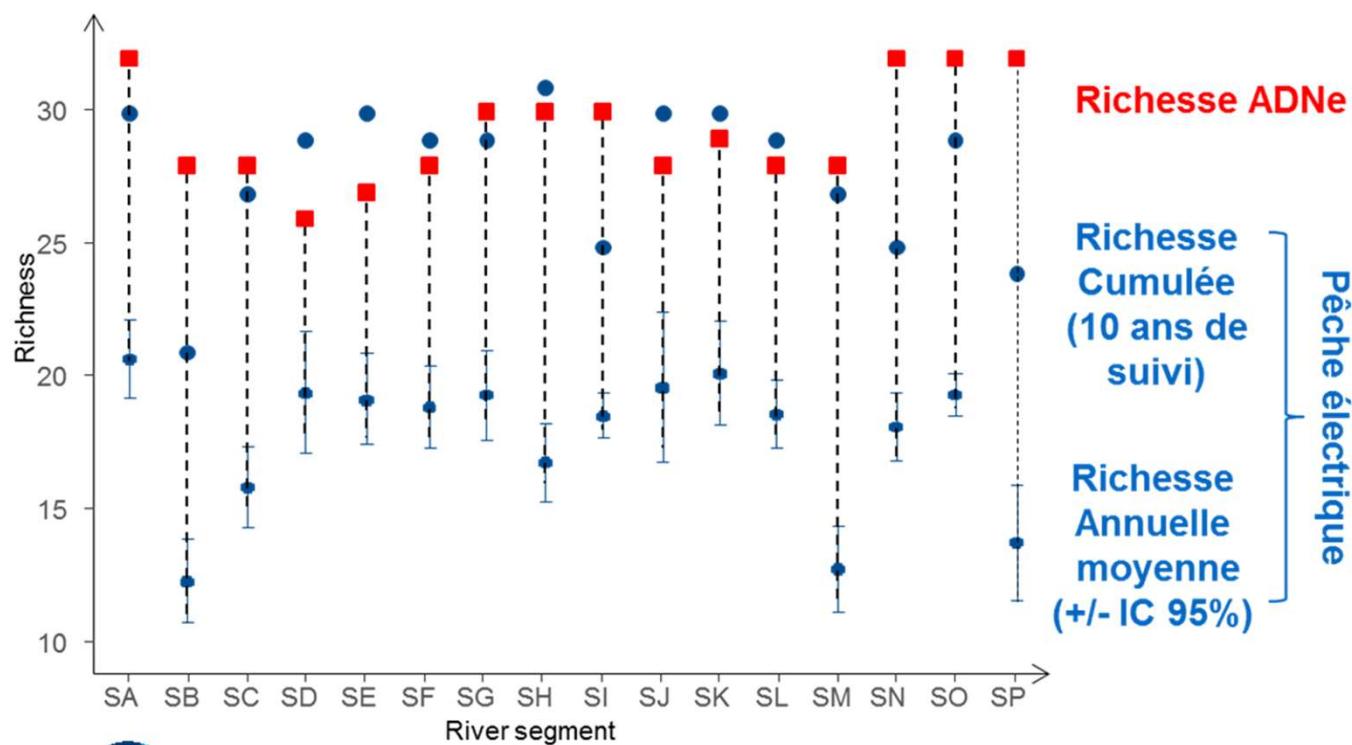


- Inventaire classique **58 %**
- Metabarcoding ADNe **97 %**



2 - Les approches par l'ADN environnemental

b - Inventaire de groupes taxonomiques (ADNe metabarcoding) : ex des Poissons





3 - Les avantages et les limites de l'ADN environnemental

a - Avantages

- Méthode standardisée et reproductible
- Bonne détectabilité des espèces (dont les espèces rares)
- Gain de temps et diminution des coûts d'inventaire
- Non invasif sur le milieu
- Possibilité de travailler sur plusieurs groupes taxonomiques à partir d'un même échantillon



3 - Les avantages et les limites de l'ADN environnemental

a - Avantages

- Méthode standardisée et reproductible
- Bonne détectabilité des espèces (dont les espèces rares)
- Gain de temps et diminution des coûts d'inventaire
- Non invasif sur le milieu
- Possibilité de travailler sur plusieurs groupes taxonomiques à partir d'un même échantillon

b - Limites

- Ne permet pas d'estimer la taille d'une population
- Pas d'informations sur les individus (taille, âge, sexe, stade de développement, etc.)
- Ne permet pas différencier les hybrides

3 - Les avantages et les limites de l'ADN environnemental

a - Avantages

- Méthode standardisée et reproductible
- Bonne détectabilité des espèces (dont les espèces rares)
- Gain de temps et diminution des coûts d'inventaire
- Non invasif sur le milieu
- Possibilité de travailler sur plusieurs groupes taxonomiques à partir d'un même échantillon

b - Limites

- Ne permet pas d'estimer la taille d'une population
- Pas d'informations sur les individus (taille, âge, sexe, stade de développement, etc.)
- Ne permet pas différencier les hybrides

**Un outil
complémentaire
aux méthodes
d'inventaires
classiques**



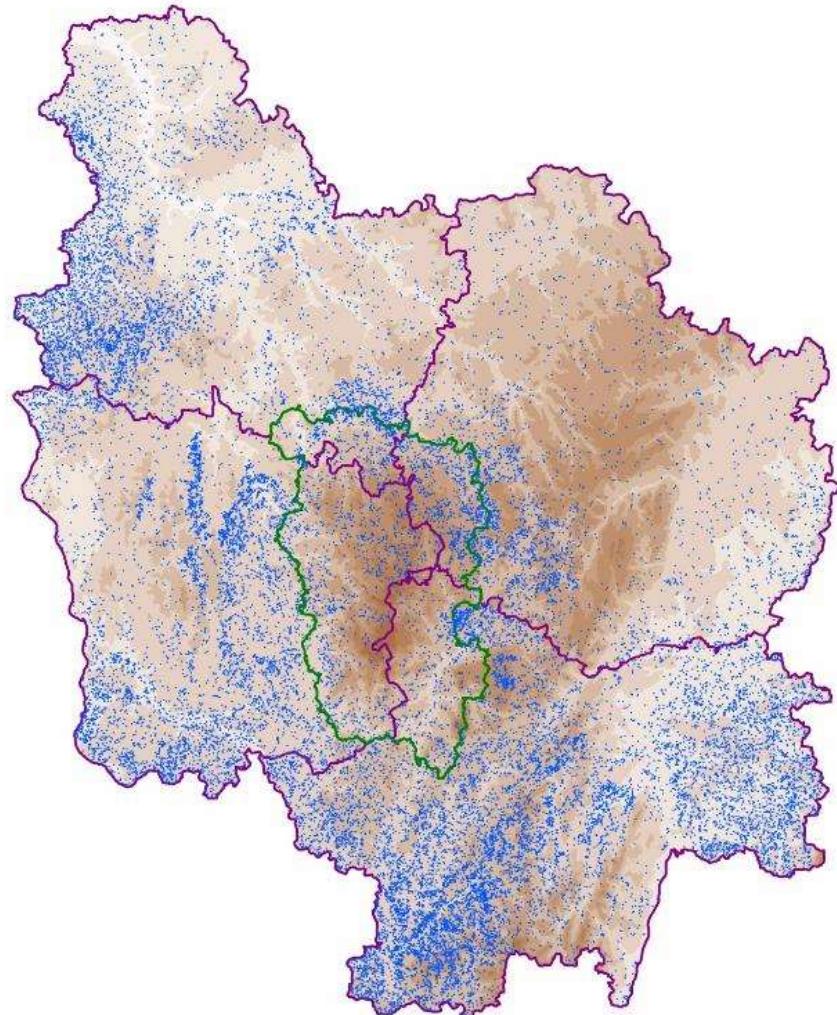
4 - Les applications de l'ADN environnemental

- Inventaires et suivis de biodiversité
- Veille environnementale, dont la détection précoce des espèces invasives, pathogènes et virus
- Suivis réglementaires - Code de l'Environnement :
 - Etats initiaux
 - Etudes d'incidences Natura 2000
 - Etudes d'impacts
 - Suivis des mesures de la séquence ERC (Eviter - Réduire - Compenser)
 - Suivis continuité écologique (Trame Verte et Bleue)
 - ...

5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

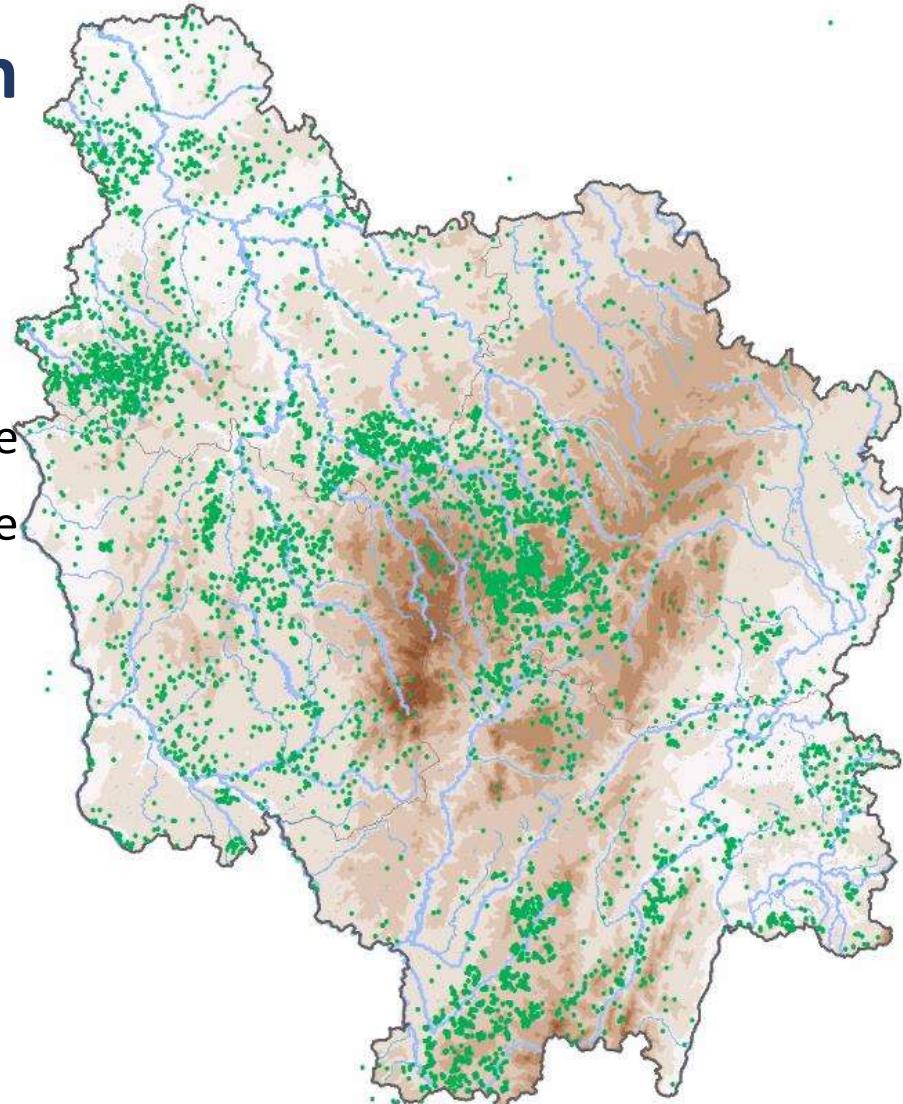
- Entre 40 000 et 50 000 mares en Bourgogne
? (d'après l'Atlas cartographique des mares de Bourgogne. CENB, 2010)



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

- Entre 40 000 et 50 000 mares en Bourgogne
? (d'après l'Atlas cartographique des mares de Bourgogne. CENB, 2010)
- Plus de 8 000 bénéficiant d'au moins un relevé dans la BBF



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

Mares de village, réservoir, abreuvoir, ornementales, forestières, privées, publiques...

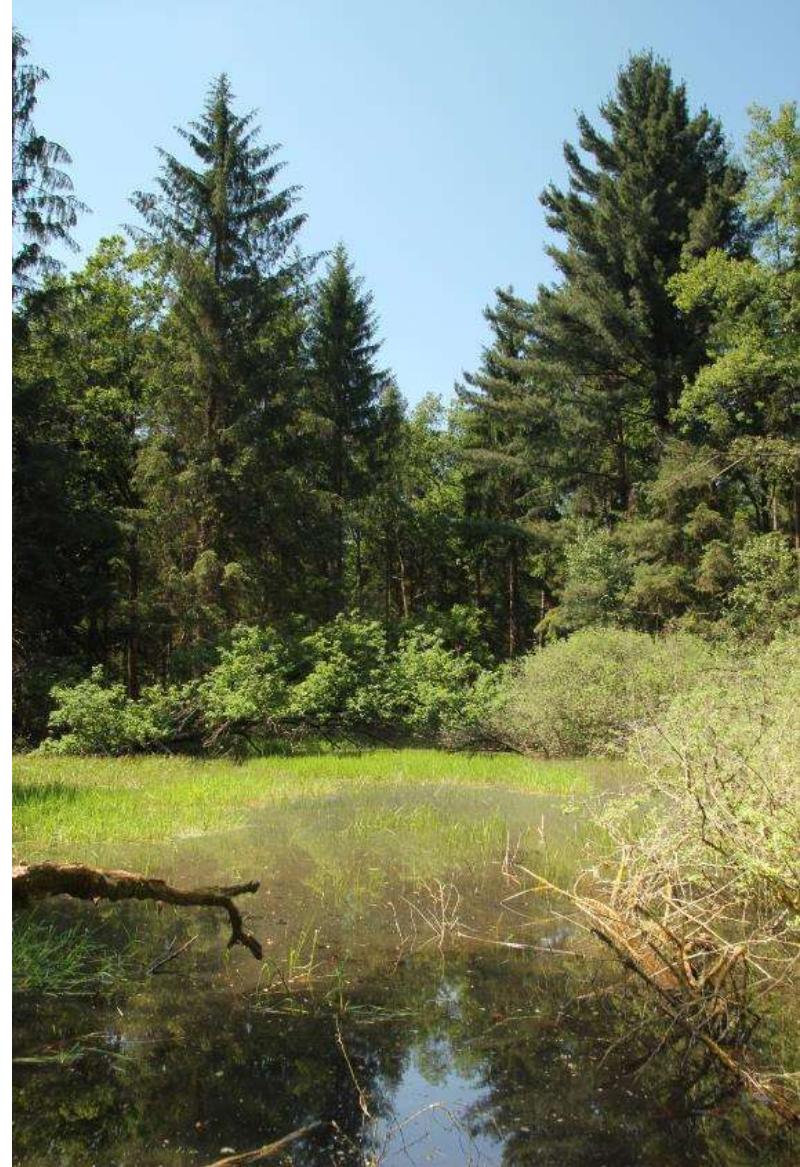


5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

Mares de village, réservoir, abreuvoir, ornementales, forestières, privées, publiques...



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

Mares de village, réservoir, abreuvoir, ornementales, forestières, privées, publiques...



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

c – Présentant une biodiversité remarquable



© Cyril RUOSO



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

c – Présentant une biodiversité remarquable



5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

c – Présentant une biodiversité remarquable

d – En forte régression

- 20 à 30 % des mares de Bourgogne disparues depuis les années 80





5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

c – Présentant une biodiversité remarquable

d – En forte régression

- 20 à 30 % des mares de Bourgogne disparues depuis les années 80





5 – Les enjeux liés aux mares en Bourgogne

a – Des milieux encore communs

b – De diverses natures

c – Présentant une biodiversité remarquable

d – En forte régression

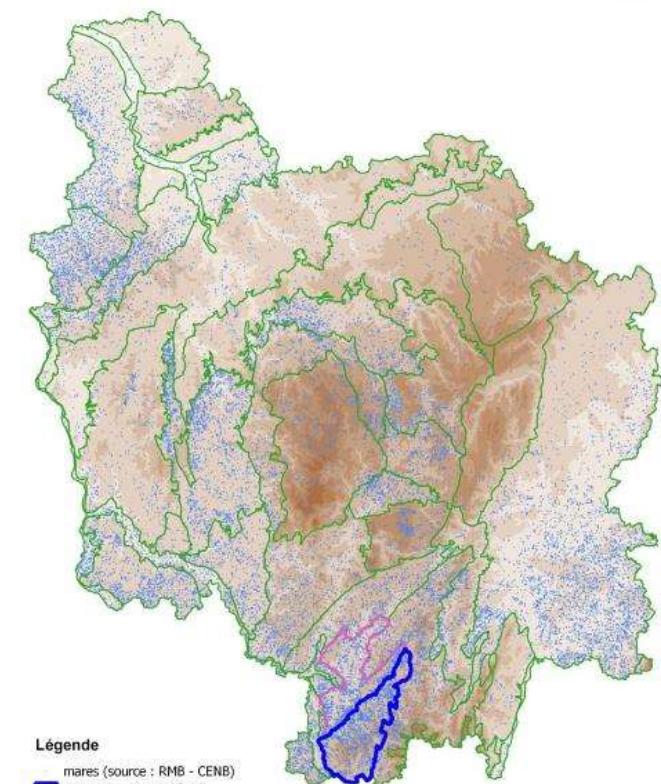
- 20 à 30 % des mares de Bourgogne disparues depuis les années 80



6 – La zone d'étude : le Brionnais

a – Région bocagère très riche en mares

- Près de 5 000 mares (?)
- Essentiellement des mares abreuvoir



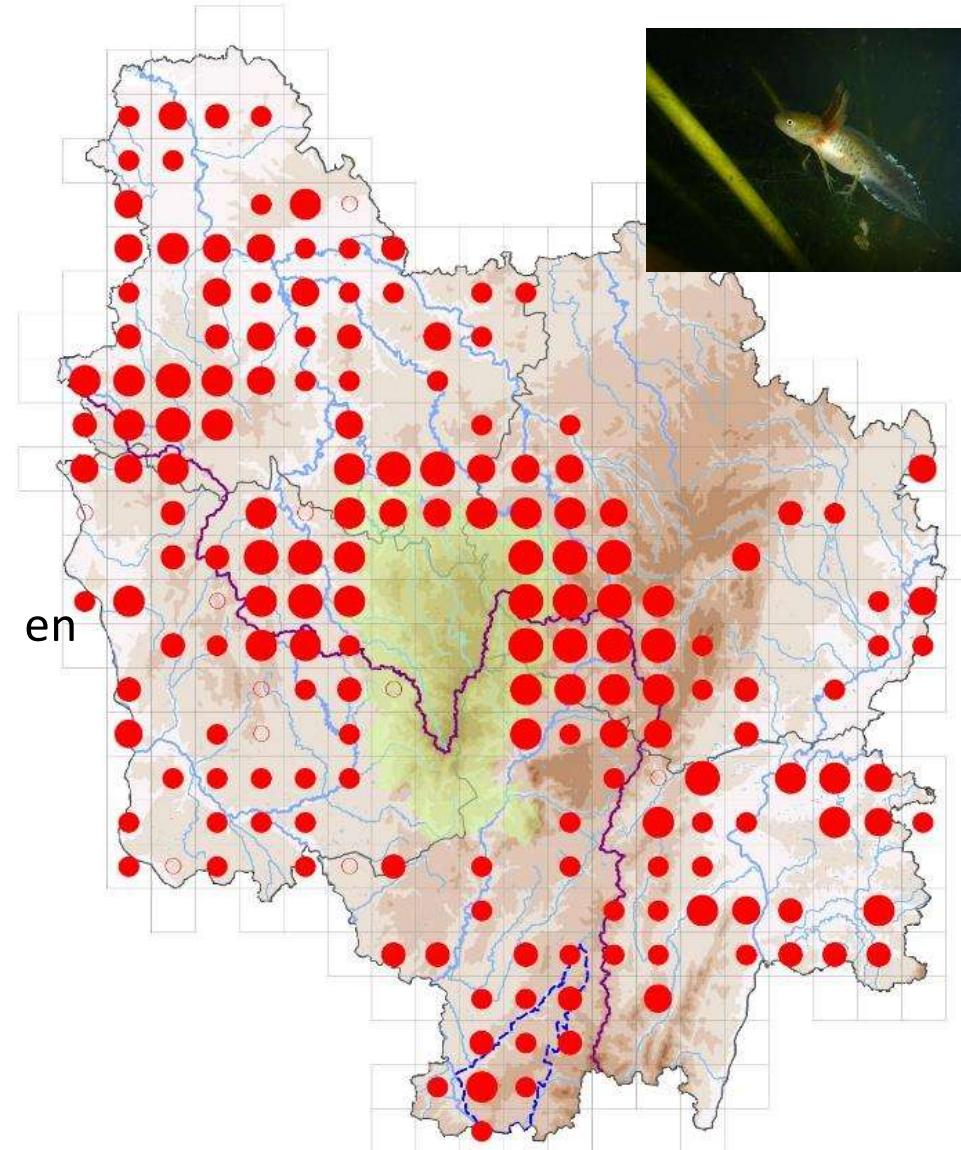
6 – La zone d'étude : le Brionnais

a – Région bocagère très riche en mares

b – Un niveau de connaissance très faible

Avant étude :

- 1 350 données de Triton crêté Bourgogne, 934 sites, 375 communes
- 14 données sur 10 localisations dans le Brionnais



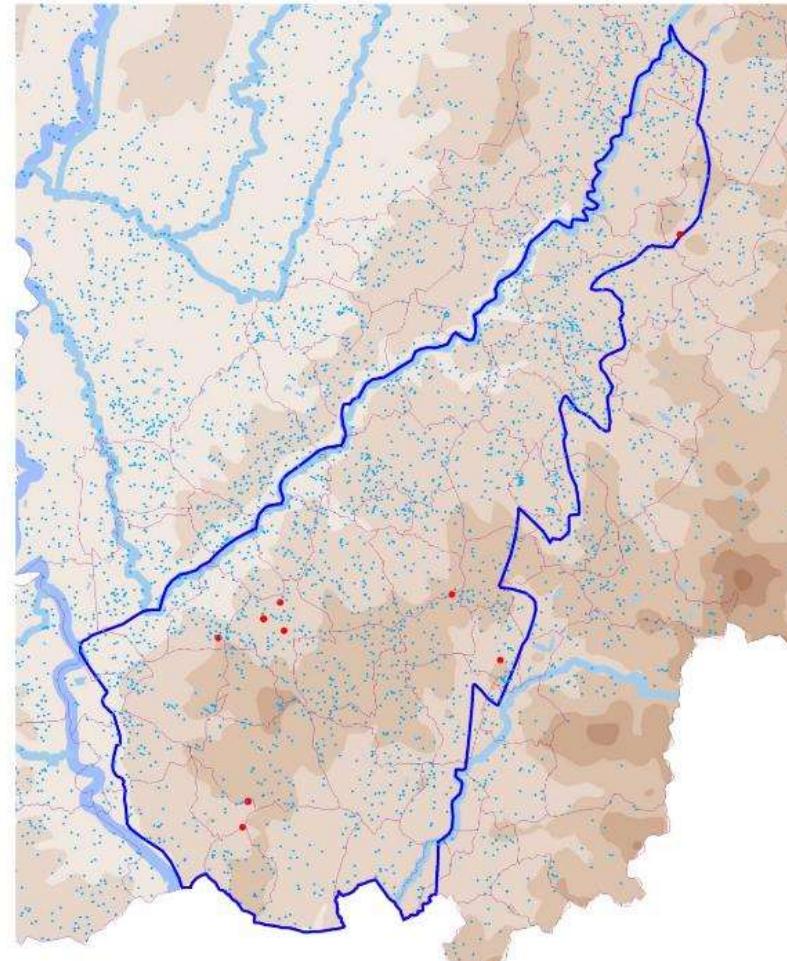
6 – La zone d'étude : le Brionnais

a – Région bocagère très riche en mares

b – Un niveau de connaissance très faible

Avant étude :

- 1 350 données de Triton crête en Bourgogne, 934 sites, 375 communes
- 14 données sur 10 localisations dans le Brionnais



Légende

● sites géolocalisés avec présence du Triton crête

• mares (source : RMB - CENB)

■ Brionnais = zone d'étude

□ limites communales concernées par l'étude

7 – L'étude

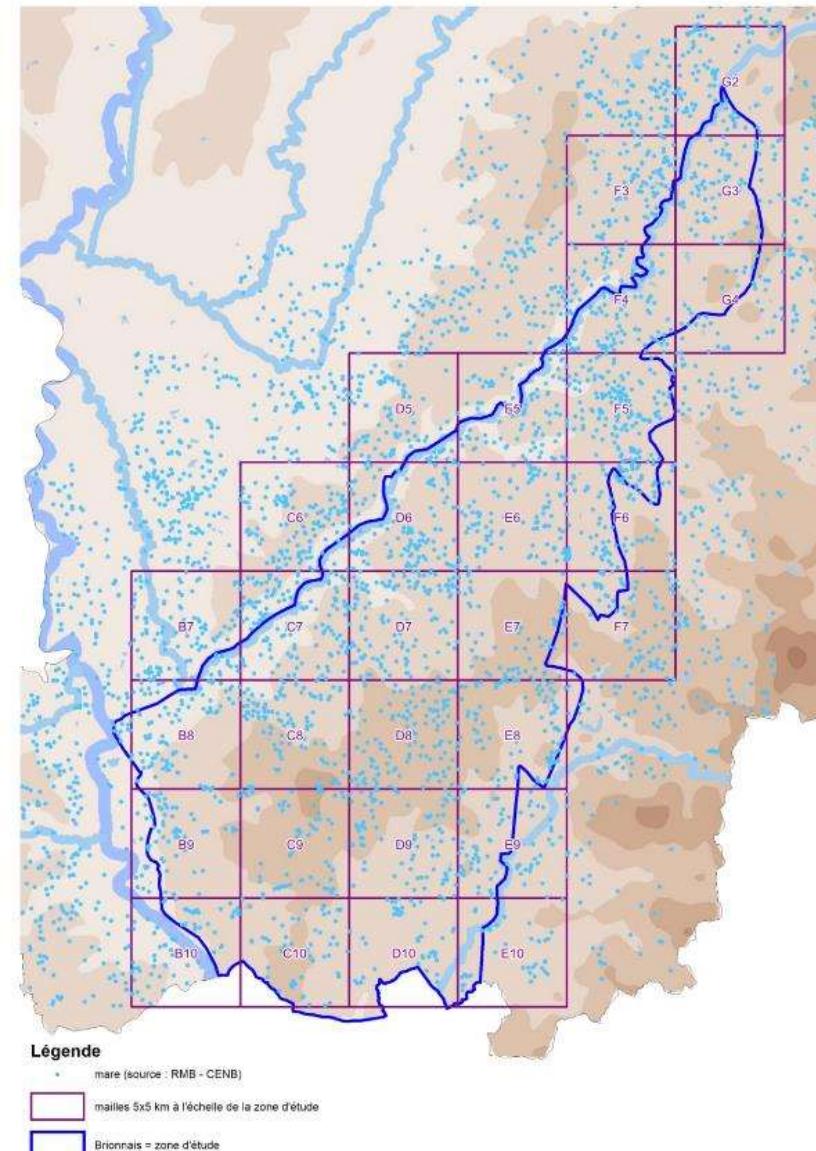
a – Objectifs

Cerner les zones à enjeux, l'état de conservation des réseaux de mares et menaces en vue de prioriser des actions de conservation



b – Plan d'échantillonnage

- 29 mailles de 5 x 5 km
- 25 mares par mailles
- 725 mares visées soit 30 % des mares cartographiées



7 – L'étude

a – Objectifs



b – Plan d'échantillonnage

c – Méthodes

- Prospections nocturnes à la lampe (1 passage)
- ADN environnemental (Barcoding ADNe)



8 – Méthode de prélèvement

a – Matériel

- Capsule de filtration
- Gants (2 paires)
- Louche
- Sachet stérile
- Seringue
- Entonnoir
- Bouteille de tampon de conservation



8 – Prélèvements

a – Matériel

b – Méthode

- 20 prélèvements de 100 ml avec la louche stérile, avec gants





8 – Prélèvements

a – Matériel



b – Méthode

- 20 prélèvements de 100 ml avec la louche stérile, avec gants
- Remplissage du sachet stérile de 2 l
- Evacuation en cas de danger ! ☺





8 – Prélèvements

a – Matériel



b – Méthode

- 20 prélèvements de 100 ml avec la louche stérile, avec gants
- Remplissage du sachet stérile de 2 l
- Evacuation en cas de danger ! ☺
- Fermeture du sachet, on agite !
- Gants neufs, étiquetage de la capsule
- Prélèv. 100ml/100ml, filtration (1l mini)





8 – Prélèvements

a – Matériel



b – Méthode

- 20 prélèvements de 100 ml avec la louche stérile, avec gants
- Remplissage du sachet stérile de 2 l
- Evacuation en cas de danger ! ☺
- Fermeture du sachet, on agite !
- Gants neufs, étiquetage de la capsule
- Prélèv. 100ml/100ml, filtration (1l mini)
- Expulsion de l'eau restante
- Tampon de conservation, on agite !



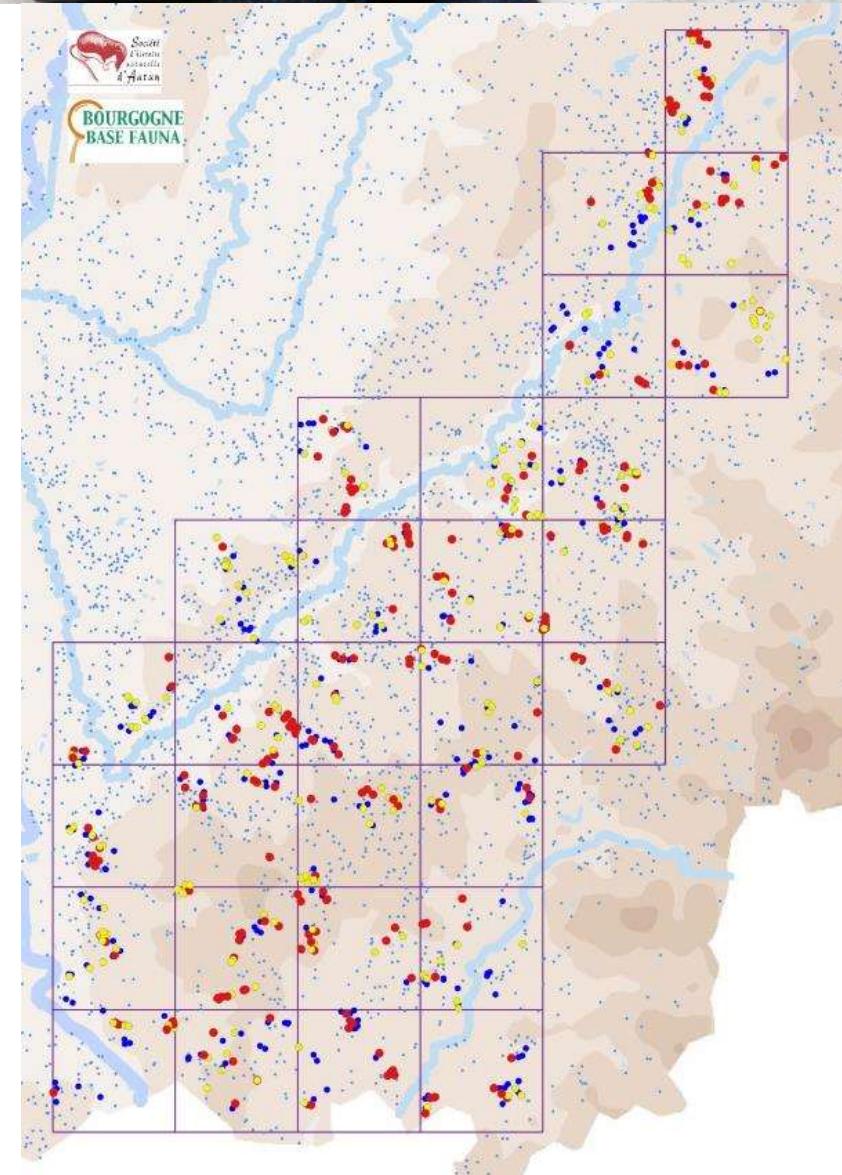
9 - Résultats

a – Inventaires à la lampes

- 747 mares prospectées (*points bleus*)
- 235 mares avec du Triton crêté (*points rouges*) -> 31 % contre 25 % en zone périmorvandelle en 2012

b - ADNe

- 218 mares ciblées (*points jaunes*)

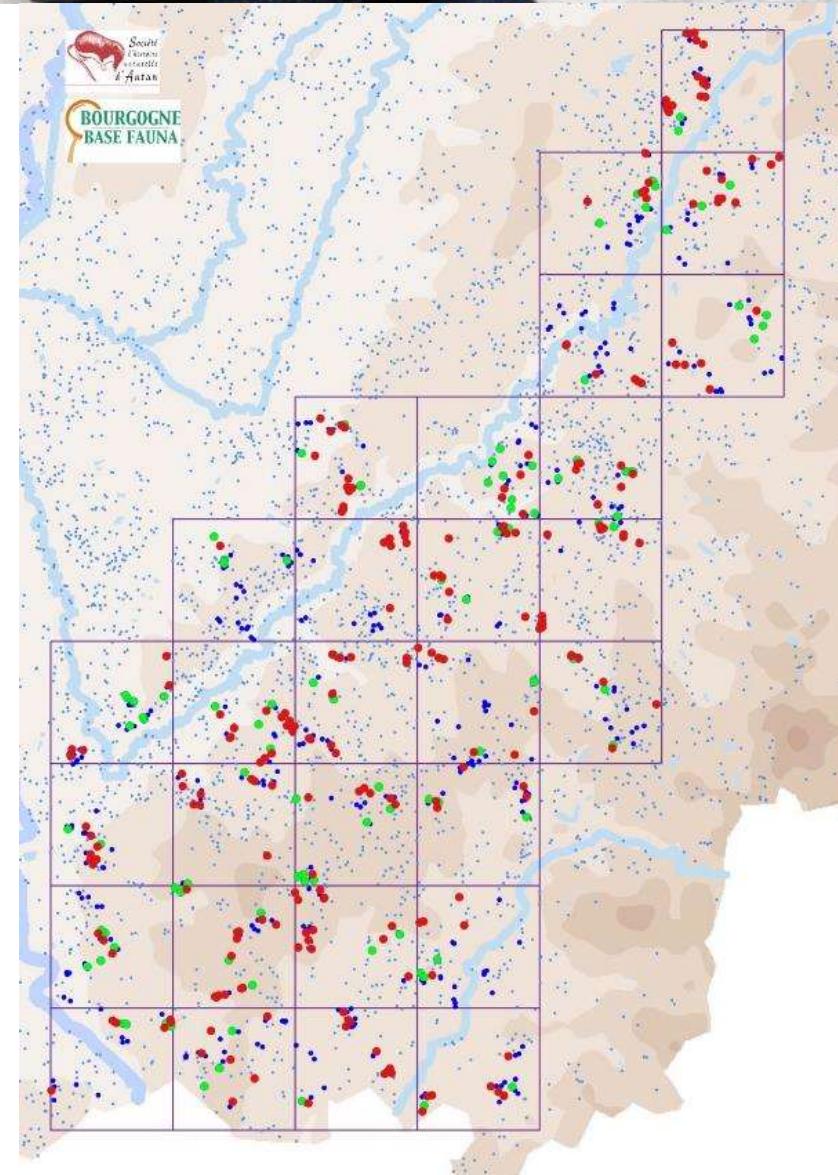


9 - Résultats

a – Inventaires à la lampes

b - ADNe

- 218 mares ciblées
- 145 mares échantillonnées
- 109 mares avec présence d'ADN (*points verts*) -> 75 % (vs 31 % méthode lampe)
- 36 mares sans détection d'ADN



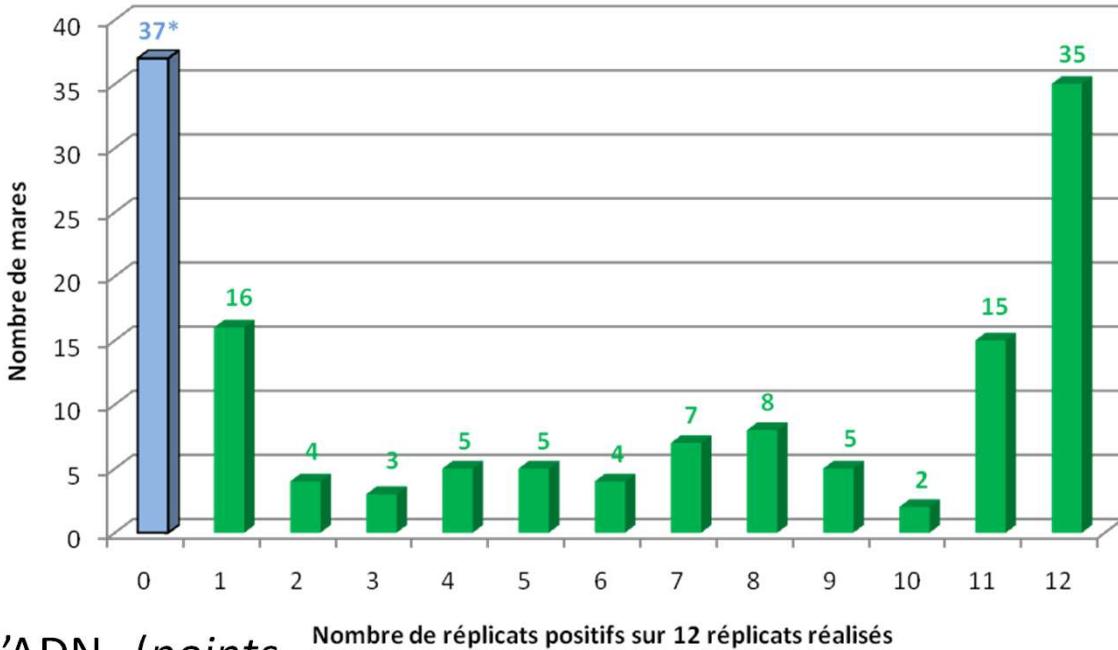


9 - Résultats

a – Inventaires à la lampes

b - ADNe

- 218 mares ciblées
- 145 mares échantillonnées
- 109 mares avec présence d'ADN (*points verts*) -> 75 % (vs 31 % *méthode lampe*)
- 36 mares sans détection d'ADN
- Très forte probabilité de reproduction sur 1/3 des mares avec détection



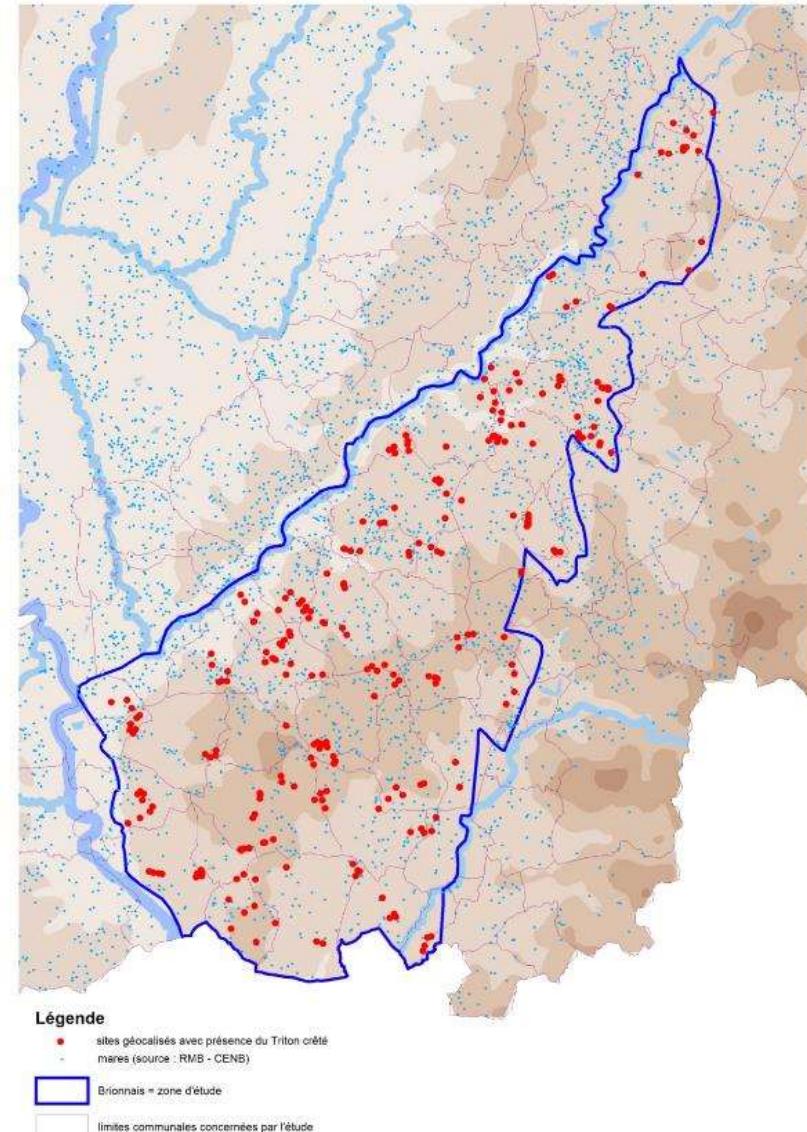
9 - Résultats

a – Inventaires à la lampes

b - ADNe

b – Bilan général

- 344 mares avec détection de Triton crêté
- Taux d'occupation de 46 %
- 344 mares avec détection de Triton crêté





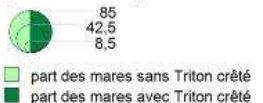
9 - Résultats

a – Inventaires à la lampes

Densité de mares par régions naturelles
(nombre de mares au Km²)

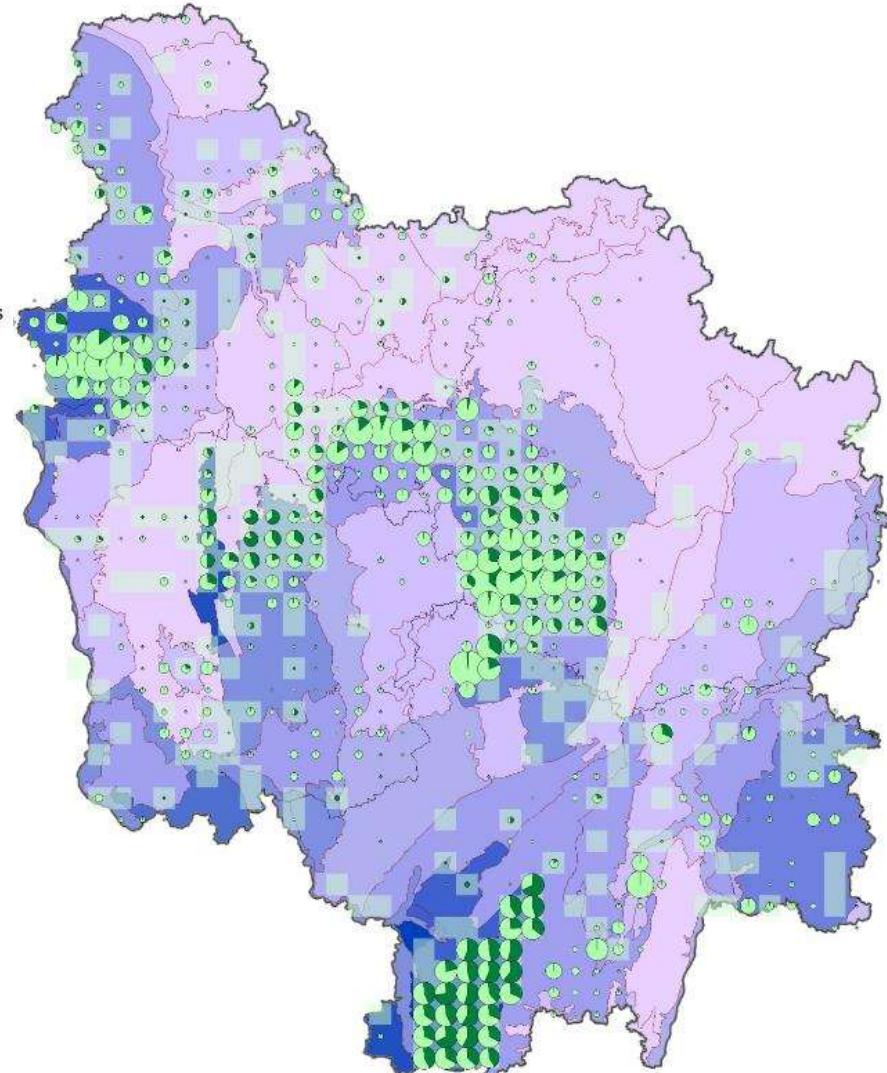
■	3,33 to 3,68	(3)
■	2,96 to 3,33	(2)
■	2,59 to 2,96	(3)
■	2,22 to 2,59	(1)
■	1,85 to 2,22	(4)
■	1,48 to 1,85	(4)
■	1,11 to 1,48	(12)
■	0,74 to 1,11	(7)
■	0,37 to 0,74	(16)
■	0 to 0,37	(28)

Nombre de mares prospectés pour les amphibiens
(par maille 5 x 5 km)



présence du Triton crêté à la maille 5x5

Limites départementales



b - ADNe

b – Bilan général

- 344 mares avec détection de Triton crêté
- Taux d'occupation de 46 %
- Région naturelle aux plus forts enjeux en Bourgogne

10 – Limites de la méthode ADNe

a – Un coût

- 26 000 euros d'analyses
- Passage terrain nécessaire et assez chronophage (1h environ par mare avec déplacements)



10 – Limites de la méthode ADNe

a – Un coût

b – Informations limitées

- Pas d'information sur les effectifs, stades, habitats ou sur la reproduction
- Pas d'info sur la présence à instant T

c – Limites de détection

- Taux de détectabilité faible à nul au-delà de 3 semaines

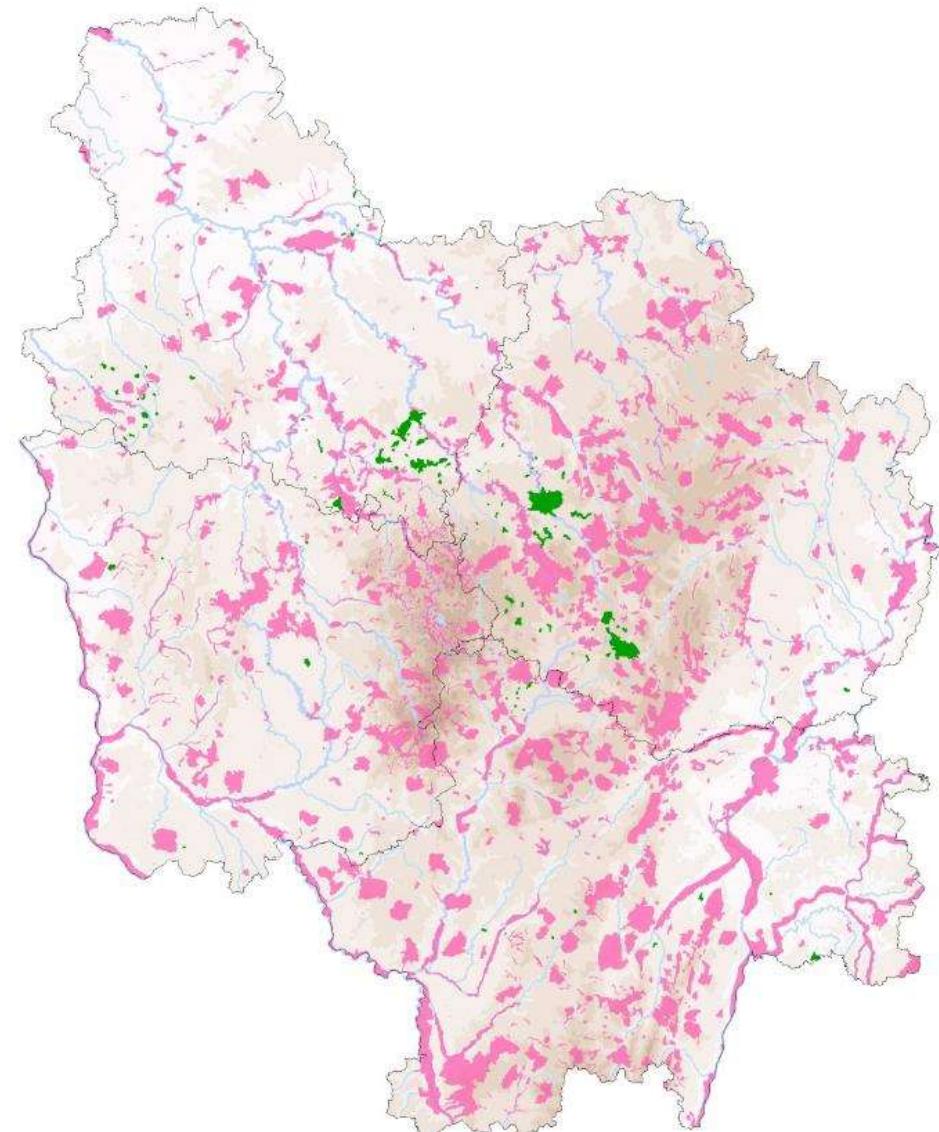
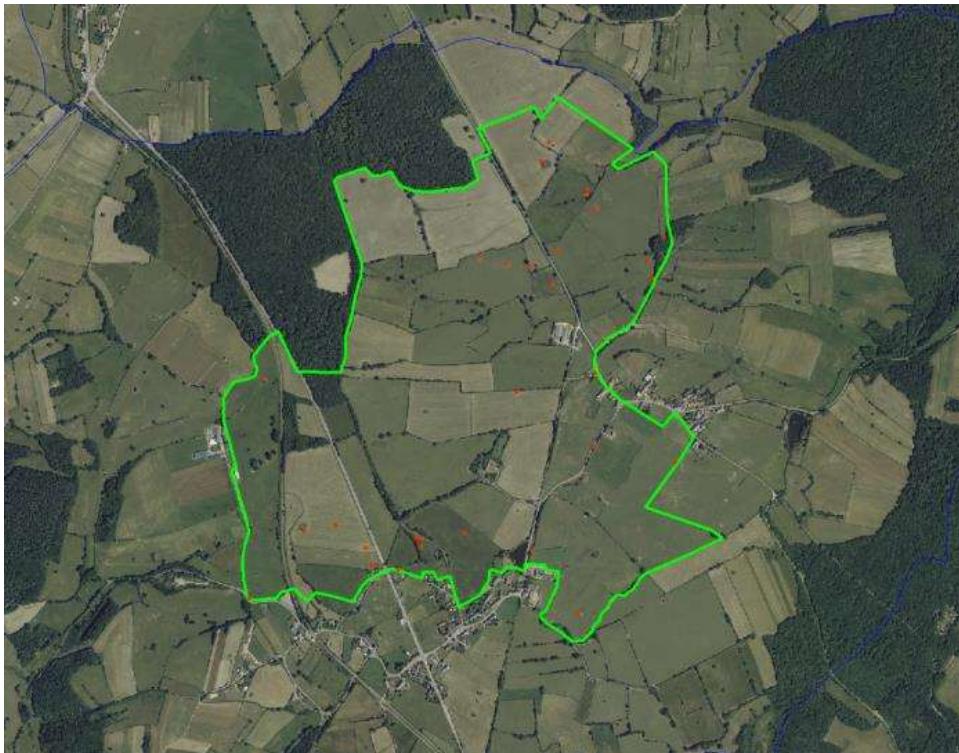
... des déchets !!! 😞





11 – Et après ?

a – ZNIEFFs



11 – Et après ?

a – ZNIEFFs

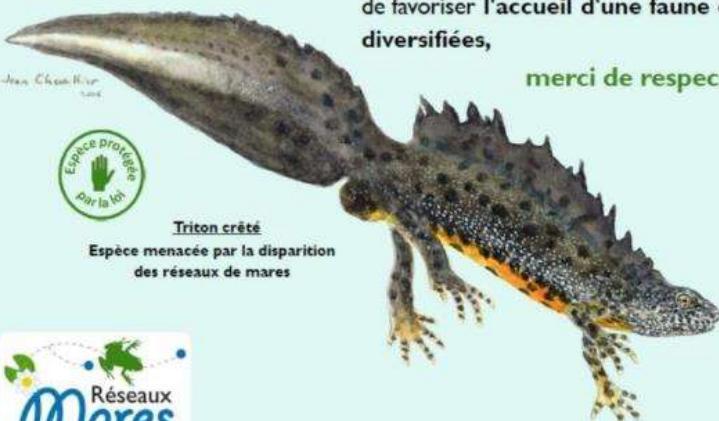
b – Refuges Mares

REFUGE MARE

Ici, une gestion adaptée est mise en œuvre afin de favoriser l'accueil d'une faune et d'une flore diversifiées,

merci de respecter les lieux ...

Photo : Jean Chauvin

 Triton crête
Especie menacée par la disparition
des réseaux de mares

 Espace protégé
par la loi

Maintien de la mare

- COMFORT
- Pas de poissons
- Pas de pollution directe

 Réseaux
Mares
de Bourgogne

Action mise en œuvre dans le cadre du programme Réseaux Mares de Bourgogne par la Société d'histoire naturelle d'Autun : 03 86 78 79 72, shna.autun@orange.fr



12^e journée des gestionnaires d'espaces naturels de Bourgogne-Franche-Comté
« Des nouvelles technologies au service de la gestion des espaces naturels »

SESSION 1 - Connaissance de la biodiversité

11 – Et après ?

a – ZNIEFFs



b – Refuges Mares



b – Restaurations





Merci de votre attention

Contacts :

SHNA-OFAB

Nicolas VARANGUIN, Directeur adjoint
03 80 64 83 95
nicolas.varanguin@shna.fr

SPYGEN

Pauline JEAN, Chef de projet
04 79 26 15 83
pauline.jean@spygen.com